

Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie
Studijní obor: Biologie



Eliška Přítulová

Maternální separace a její dopad na neurotransmiterové systémy v mozku
Maternal separation and its impact on neurotransmitter systems of the brain

Bakalářská práce

Školitel: doc. RNDr. Jiří Novotný, DSc.

Praha, 2019

Poděkování

Chtěla bych poděkovat svému školiteli doc. RNDr. Jiřímu Novotnému DSc., za všechny rady a pomoc při psaní bakalářské práce. Velký dík patří i všem členům mé rodiny za podporu při studiích a velkou trpělivost, kterou se mnou v průběhu psaní práce měli.

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval/a samostatně a že jsem uvedl/a všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 7.5.2019

Podpis

Abstrakt

Nepříznivé události vyvolávající stres během postnatálního období života mohou změnit normální vývoj mozku a neuroendokrinního systému a zvýšit náchylnost jedince vůči různým poruchám. Maternální separace je model využívaný pro výzkum vlivů časného stresu na organismus. Principem tohoto modelu je vyvolat stres mláděte narušením jeho kontaktu s matkou, který je důležitý pro jeho správný vývoj. Cílem této práce je sjednotit dosavadní poznatky o dopadu maternální separace na signální dráhy v mozku a nastínit směry budoucího výzkumu. Přes veškeré rozdíly jednotlivých studií z nich vyplývá základní poznatek, že maternální separace vede k deficitům ve funkcích důležitých neurotransmitterových systémů, může vyvolávat dlouhodobé změny v různých signálních drahách mozku a může být doprovázena také změnami na neuroendokrinní a behaviorální úrovni.

Klíčová slova: Časný postnatální stres, maternální separace, mozek, neurotransmitery, neuropsychiatrické poruchy

Abstract

Adverse early life stress conditions during the postnatal period can alter normal brain and neuroendocrine system development and increase the susceptibility of the individual to various disorders. Maternal separation is a model used to investigate the effects of early life stress on organism. The principle of this model is to provoke the stress of the infant by disrupting its contact with the mother, which is important for its proper development. The aim of this paper is to unify the existing knowledge about the impact of maternal separation on signaling pathways in the brain and to outline the directions of future research. Despite all the differences between the individual studies, there is a basic finding that maternal separation leads to deficits in the functions of important neurotransmitter systems, can induce long-term changes in different brain signaling pathways and can be accompanied by changes at the neuroendocrine and behavioral levels.

Key words: Early postnatal stress, maternal separation, brain, neurotransmitters, neuropsychiatric disorders

Seznam zkratek:

| | |
|------|---|
| 5-HT | serotonin |
| ACTH | adrenokortikotropní hormon |
| AD | Alzheimerova choroba |
| ACh | acetylcholin |
| AMPA | α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionové kyselina |
| AMY | amygdala |
| CB1 | kanabinoidní receptor 1 |
| CB2 | kanabinoidní receptor 2 |
| CNS | centrální nervová soustava |
| CORT | kortisol/kortikosteron |
| CRH | kortikotropin uvolňující hormon |
| DA | dopamin |
| DRN | dorzální rafeální jádro |
| EAAT | transportér excitačních aminokyselin |
| eCB | endokanabinoidy |
| GABA | kyselina γ -aminomáselná |
| GAS | obecný adaptační syndrom |
| GC | glukokortikoidy |
| GR | glukokortikoidní receptor |
| HIP | hipokampus |
| HPA | hypotalamo-hypofyzárně-nadledvinová osa |
| mPFC | mediální prefrontální komplex |
| MR | mineralokortikoidní receptor |
| MS | maternální separace |
| NAc | nucleu accumbens |
| NMDA | N-methyl-D-asparagová kyselina |
| OT | oxytocin |

| | |
|-------|---|
| PFC | prefrontální kortex |
| PLC | prelimbický kortex |
| PND | postnatální den |
| PVN | paraventriculární jádro hypotalamu |
| SAM | sympato-adrenomodulární osa |
| SERT | serotoninový transportér |
| SN | substancia nigra |
| ST | striatum |
| TH-IR | tyrosinhydroxylázové imunoreaktivní neurony |
| VSP | vasopresin |
| VTA | ventrální tagmentální oblast mozku |

Obsah

| | |
|---|----|
| 1. Úvod | 1 |
| 2. Literární přehled | 2 |
| 2.1. Stres | 2 |
| 2.2. Systémová reakce organismu na stres | 2 |
| 2.3. HPA osa | 3 |
| 2.4. Časný stres | 4 |
| 2.5. Maternální separace | 5 |
| 3. Neurotransmitterové dráhy a maternální separace | 6 |
| 3.1. Dopaminergní signální dráha | 7 |
| 3.2. Serotoninergní signální dráha | 9 |
| 3.3. GABAergní signální dráha | 10 |
| 3.4. Glutamatergní signální dráha | 12 |
| 3.5. Oxytocinergní a vasopresinergní signální dráha | 13 |
| 3.6. Cholinergní signální dráha | 13 |
| 3.7. Opioidní signální dráha | 15 |
| 3.8. Endokanabinoidní signální dráha | 15 |
| 4. Závěr | 17 |
| 5. Seznam použité literatury | 18 |

1. Úvod

Časný stres života v průběhu postnatálního vývoje může mít vážné a dlouhodobé následky. Zasahuje do vývoje organismů, a to především vývoje centrálního nervového systému. Časné psychosociální stresory pak mohou vést k neuropsychiatrickým poruchám, jako je úzkost, deprese a posttraumatická stresová porucha (Brunson et al., 2001). Jedním z důvodů těchto vlivů časného stresu života je narušení vývoje mozku prostřednictvím porušení různých aktivit neurotransmiterů. Specifické důsledky však závisí na typu, načasování, kvalitě, závažnosti a trvání časného stresu.

Maternální separace (MS) je jedním z modelů užívaných pro výzkum vlivu časného stresu na organismus. Pomocí něj se dá modelovat psychosociální stres. Vliv na mozek a působení na funkci neurotransmiterových systémů je jednou z nejdůležitějších vlastností MS. MS ovlivňuje signální dráhy hlavně dopaminu, serotoninu, GABA, glutamátu, oxytocinu, vasopresinu, acetylcholinu a opioidních neurotransmiterů. Tato práce si klade za cíl shrnout a diskutovat aktuální informace o vlivu maternální separace na tyto hlavní neurotransmiterové dráhy v mozku a jejich funkci.

2. Literární přehled

2.1. Stres

První, kdo použil pojem stres ve smyslu biochemické reakce na nebezpečný stimul byl Hanse Selye (Selye, 1951). Souhrn reakcí, které pozoroval při výzkumu na potkanech vystavených škodlivým činitelům, nazval obecný adaptační syndrom (General adaptation syndrom, GAS) a popsal tři fáze GAS. Při působení nepříznivého stavu projde organismus poplachovou reakcí následovanou sekundární fází odporu. Pokud agens nezmizí nebo není jeho působení zvráceno, dojde ke konečné fázi vyčerpání. Tuto nespecifickou třífázovou reakci označovanou později jako nespecifický stresový syndrom vyvolává velké množství různých podnětů. Tyto podněty nazval stresory. Stresory mohou být povahy chemické, fyzické a psychické, a mohou mít původ jak endogenní, tak exogenní. Selye později psal i o specifických účincích stresorů, které podle něj ale mění pouze průběh výsledného nespecifického GAS (Selye, 1950). Pozdější výzkumy rozdělily stresory do mnoha různých skupin. Lze je například dělit podle doby trvání na akutní a chronické (Pacak et al., 1998) nebo podle toho, jak na ně reaguje mozek (Dayas et. al., 2001). Specifické stresory aktivují specifickou kombinaci adaptačních mechanismů, přesto však lze v odpovědi organismů vyzorovat určité obecné zákonitosti.

Sterling a Eyer přišli s pojmem allostáza, která je základní složkou udržování homeostáze. Vyslovili hypotézu, že stabilita se udržuje prostřednictvím adaptací, které využívají nervových, neuroendokrinních a imunitních mechanismů (Sterling & Eyer, 1988). Takzvaná alostatická zátěž představuje opotřebení organismu, které vzniká v důsledku neustálého přizpůsobování se vnějším podmínkám. Při celé řadě okolností nemusejí alostatické systémy vykonávat svojí funkci správně. Pokud jsou systémy příliš často aktivovány, nejsou zastaveny po odeznění stresu nebo neadekvátně reagují, dochází k velké alostatické zátěži. To může vést k vážným problémům a dlouhodobým onemocněním organismu (McEwen, 1998).

2.2. Systémová reakce organismu na stres

Stresový systém má dva režimy provozu. Rychlejší sympato-adrenomodulárního osu (SAM) a pomalejší hypotalamo-hypofyzárně-nadledvinovou osu (HPA).

Spouštěči stresových systémů jsou mozkový kmen a limbické struktury předního mozku. Mozkový kmen obdrží signály, které značí narušení homeostáze, jako například ztráta krve, zánět nebo respirační problémy (Herman et al., 2003). Vzestupné dráhy mozkového kmene

stimulují paraventriculární jádro hypotalamu (paraventricular nucleus of hypothalamus, PVN) a pregangliové autonomní neurony. Tyto signály vedou k aktivaci HPA a SAM osy (Cunningham & Sawchenko, 1988). Aktivace SAM osy a sympatiku pak zvyšuje hladiny cirkulujícího adrenalinu a noradrenalinu.

Limbické struktury zpracovávající psychogenní a systémové stimuly jsou amygdala (AMY), hipokampus (HIP) a prefrontální kortex (PFC). Tyto regiony dostávají informace ze smyslového zpracování vyššího řádu. Pracují souběžně a ovlivňují aktivaci osy HPA a autonomních reakcí na stres. HPA osu aktivují nepřímými vstupy (Herman et al., 2003).

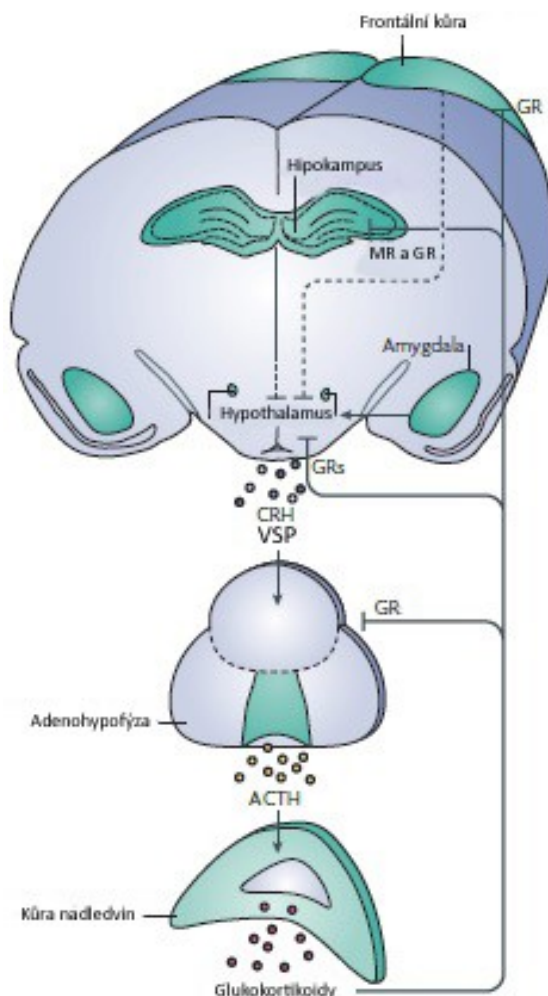
2.3. HPA osa

Neurony ve střední parvocelulární části PVN jsou stimulovány přímými vstupy z mozkového kmene nebo nepřímými z limbických struktur. Produkují kortikotropin uvolňující hormon (CRH) a jsou primárním místem působení negativní glukokortikoidní zpětné vazby. CRH je nezbytný pro sekreci adrenokortikotropního hormonu (ACTH) a arginin vasopresinu (VSP) (de Goeij et al., 1991). ACTH je syntetizován v přední hypofýze a je uchováván v sekrečních vezikulech, a tak je k dispozici k rychlému uvolňování (Dallman et al., 1987). Po uvolnění ACTH do krevního oběhu se váže na melanokortinový receptor typu 2 ve vrstvě zona fasciculata kůry nadledvin. Dojde tak k indukci tvorby glukokortikoidů (GC) z cholesterolu a rapidnímu zvýšení jejich koncentrace v plasmě (Spiga & Lightman, 2015).

GC jsou efektorovými hormony HPA osy. Hlavním glukokortikoidem u lidí, většiny savců a ryb je kortisol (CORT). U potkanů, myší a většiny plazů jde o příbuznou molekulu, kortikosteron (CORT) (Norris & Carr, 2013). CORT je rozpustný v tucích a nemůže být na rozdíl od ACTH skladován ve váčcích. Proto existuje zhruba 3-5 minutové časové zpoždění před uvolněním CORT (Thrivikraman et. al., 2000).

Účinky CORT v tkáních zprostředkovávají intracelulární glukokortikoidní (GR) a mineralokortikoidní (MR) receptory (Hollenberg et al., 1985). Receptory fungují jako ligandem aktivované transkripční faktory a v neaktivním stavu jsou v multiproteinovém komplexu, který obsahuje protein tepelného šoku 90 (hsp90) (Mangelsdorf et al., 1995). MR váže GC s vyšší afinitou než GR (Reul & Kloet, 1985). MR/GR zprostředkované řízení genové exprese a vyvolané změny v proteosyntéze mají za následek relativně dlouhotrvající změny v buněčných funkcích. Mezi aktivací receptoru a pozorováním změny buněčné funkce je významná časová prodleva. To by z hlediska načasování mělo být bráno v úvahu při navrhování experimentů s manipulací os HPA a sledováním odezvy. Další, faktor, který by se neměl opomíjet při navrhování experimentů a vyhodnocování dat, je pohlavní dimorfismus. Například samice

potkanů mají obvykle vyšší bazální hladiny CORT než samci. Při vystavení stejnému stresoru samice potkanů také typicky vykazují vyšší odezvu HPA osy než samci. Velikost rozdílu mezi pohlavím se liší podle typu stresoru (Atkinson & Waddell, 1997).



Obr 1. Přehled průběhu odezvy na stres a negativní zpětné vazby GC. Převzato a upraveno podle (Lupien et. al., 2009)

Dlouhá aktivace HPA osy může být pro organismus škodlivá. Proto musí být přísně regulována. Hlavní regulaci HPA osy zprostředkovává negativní zpětná vazba GC (obrázek 1.). GC inhibují osu přímým nebo nepřímým způsobem, a to vede k poklesu jejich sekrece (Han et. al., 2005).

PVN je silně inervováno GABAergními vstupy (Decavel & Van Den Pol, 1990), které také poskytují významný inhibiční tonus (Cole & Sawchenko, 2002).

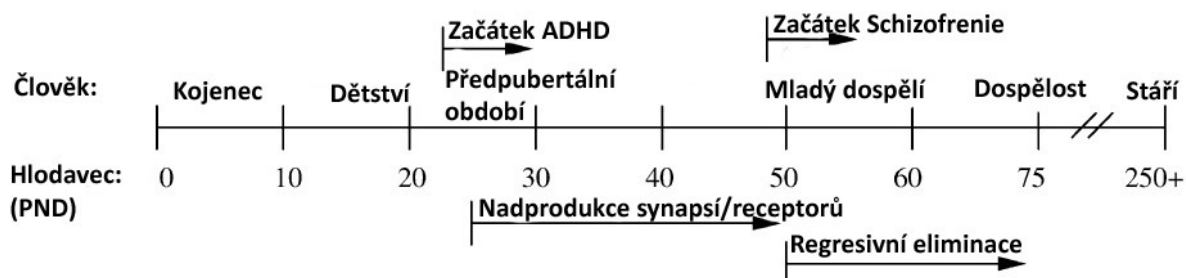
2.4. Časný stres

Nežádoucí účinky v raném věku mohou modulovat HPA osu a ovlivnit emocionální chování v dospělosti. Postnatální mozek je daleko od dospělosti a pokračuje ve významných vývojových procesech. Tyto procesy zahrnují axonální a dendritický růst, synaptickou

stabilizaci a synaptické prořezávání. Když je v tomto kritickém období organismus vystaven stresu, jeho vliv na funkci mozku může být dlouhodobý nebo dokonce trvalý.

V průběhu desetiletí se proto vědci ve svém výzkumu zaměřovali na identifikaci mechanismů, kterými stres v raném životě reguluje vývoj mozku. Prokázalo se, že vystavení stresu v důležitých obdobích v průběhu vývoje může mít dlouhodobé následky a zvyšuje riziko psychopatologie (Heim et. al., 1997). Specifické důsledky však závisí na typu, načasování, kvalitě, závažnosti a trvání časného stresu. Vývojový stres může mít dlouhodobé důsledky pro strukturu a funkci mozkových sítí, a v konečném důsledku tak může modulovat emocionální, sociální a kognitivní chování. Časné psychosociální stresory mohou vést k neuropsychiatrickým poruchám, jako je úzkost, deprese a posttraumatická stresová porucha (Brunson et al., 2001).

K výzkumu efektů časného stresu se používá několik stresových modelů aplikovaných v kritických vývojových obdobích. Účinky stresorů v časně fázi života jsou nejčastěji modelovány na hlodavcích. Obrázek 2 schematicky porovnává hlavní stadia vývoje hlodavců a lidí.



Obr. 2 Časová osa, která přibližně porovná věk a období vývoje lidí a hlodavců (převzato a upraveno podle Andersen, 2003).

2.5. Maternální separace

Nežádoucí zkušenosti u savců, včetně lidí, opic a hlodavců v časném postnatálním období mohou mít dlouhodobé účinky na emocionalitu a citlivost na stres (Nelson et. al., 2011; Plotsky et al., 2005). Vztah matka-mládě je po narození důležitým faktorem, který ovlivňuje vývoj mláďat. Mateřská péče u hlodavců byla dobře charakterizována a skládá se ze stereotypního chování, jako je kojení (klenutá záda) a olizování/pečování. Mláďata, která po narození dostala od matky bohaté impulsy, vykazují v dospělosti sníženou hladinu strachu a úzkosti ve srovnání s těmi, která to postrádala (Caldji et al., 1998). V souladu s tím se většina zvířecích modelů stresu v raném věku zaměřila na interakci s matkou. Ruší buď kvantitu nebo kvalitu mateřské péče.

Maternální separace (MS) je široce užívaným raným stresovým modelem. Mládě se při něm opakovaně odděluje od matky většinou po dobu 3 hodin od 1 dne narození (PND1) až po 21 den (PND21). Používají se však i kratší nebo prodloužené separace (tabulka 1). U hlodavců je MS silným stresorem, který vyvolává dlouhodobé změny v citové a neuroendokrinní reakci na stres, spojené s depresemi a symptomy podobnými úzkosti. Postnatální manipulace v průběhu prvních týdnů života v podmínkách strachu snižuje reakce HPA osy (Barbazanges et al., 1996; Meaney et al., 1988).

Tab. 1 Přehled podmínek, které se používají ve studiích maternální separace (upraveno podle Nylander and Roman 2013 a Ohta et al. 2014).

| Model | Podmínky | Změna interakce matka-mládě |
|---------------------------------|-------------------------------|---|
| Krátká maternální separace | Separace po dobu 15 min | Zvířata jsou vystavena manipulaci a kratšímu oddělení |
| Maternální separace | Separace obvykle na 180 minut | Naruší sociální interakce mezi matkou a mláďaty |
| Prodloužená maternální separace | Separace >180 minut | |
| Maternální deprivace | Separace do 24 hodin | |

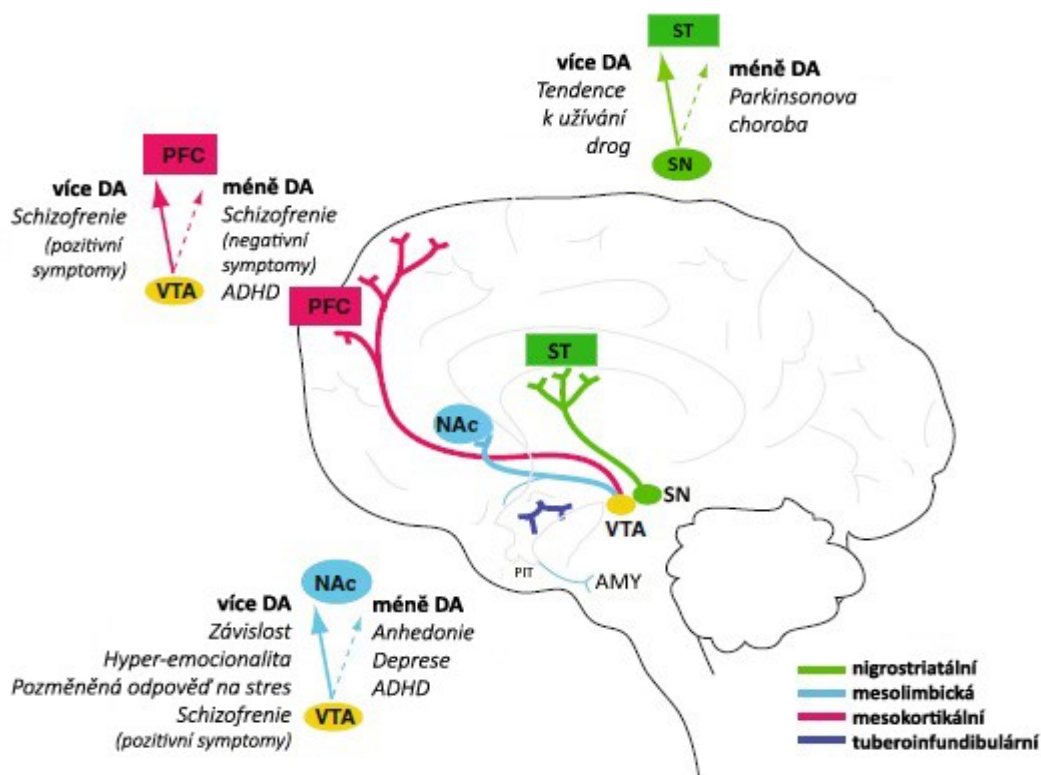
3. Neurotransmitterové dráhy a maternální separace

Pokud dojde k vystavení stresu v raném postnatálním období, kdy se stále vyvíjejí mnohé nervové systémy, může to také vést k trvalým změnám v některých neurotransmitterových systémech (Matthews et. al., 2001). Časný stres života narušuje vývoj mozku prostřednictvím rušení různých aktivit neurotransmiterů.

3.1. Dopaminergní signální dráha

Dopaminový (DA) systém je jedním z hlavních zprostředkovatelů nežádoucího vlivu časného stresu na zranitelnost vůči psychopatologiím. DA systém se vyvíjí brzy během embryonálního období, dozrává v období dospívání a vytváří stabilní vzorce během mladé dospělosti. Tento dlouhodobý vývoj poskytuje rozsáhlý časový úsek, ve kterém mohou nepříznivé podmínky v raném věku vyvolat dysfunkci systému (Money & Stanwood, 2013).

DA hraje klíčovou roli v řadě mozkových funkcí jako jsou emoce, rozpoznávání, odměna a kontrola pohybu (Nieoullon & Coquerel, 2003). DA neurony jsou lokalizovány ve ventrální části středního mozku (Björklund & Dunnett, 2007). DA je hlavním regulátorem neuronových sítí v mediálním prefrontálním kortexu (mPFC), AMY a nucleu accumbens (NAc). Mesolimbická a mesokortikální DA dráhy mají počátek ve ventrální tegmentální oblasti (VTA) mozku. Mesolimbická dráha vystupuje z VTA do NAc a AMY. Mesokortikální dráha vystupuje z VTA do PFC. Nigrostriální dráha vystupuje ze substantia nigra (SN) do striatu (ST) (Nieoullon & Coquerel, 2003).



Obr. 3 Přehled dopaminergních drah a důsledků jejich hypo- nebo hyperaktivity. Převzato a upraveno z (Rodrigues et. al., 2011).

Jednou z možností, jak MS může ovlivňovat dopaminergní signální dráhu, je vliv na DA neurony v oblastech mozku důležitých pro tuto dráhu. Ve studii Chocyk et al., 2011 zkoumali způsob, jak MS působí na tyrosinhydroxylázové imunoreaktivních (TH-IR) dopaminergních

neurony ve strukturách středního mozku potkanů. Zjistili změny v počtu TH-IR neuronů ve VTA a SN. Do dospělosti pak přetrvalo zvýšení jen ve VTA, a to pouze u samic.

Paradigma MS ovlivňuje neurální a synaptickou plasticitu, která může způsobit změny ve funkci DA neuronů, receptorů a transportérů v klíčových oblastech mozku inervovaných DA neurony (Brake et al., 2004; Rentesi et al., 2013). Dosud pozorované změny byly však smíšené a závěry některých studií nejednotné. Byla pozorována jak snížená aktivita, tak hyperaktivita DA systému. Jedním z důvodů těchto odlišných výsledků může být rozdílná doba zrání a fungování DA obvodů zapojených v době působení časného stresu (Rodrigues et al., 2011). Některé práce kladoucí důraz na péči, kterou matka poskytuje mláďatům, prokázaly, že dobrá kvalita této péče ovlivňuje vývoj mesolimbického dopaminergního systému v mláděti (Pena et al., 2014). Můžeme tedy předpokládat, že snížená kvalita této péče bude mít negativní dopad.

MS může také modulovat expresi dopaminergních receptorů v různých oblastech mozku (tabulka 2).

Tab. 2 Přehled studií vypovídajících o vlivu MS na expresi dopaminových receptorů v mozku.

| Studie | Změny exprese DA receptorů v mozku |
|-------------------------------|--|
| Gracia-Rubio et al., 2016 | Snížení D2 v NAc |
| Rentesi et al., 2013 | Snížení D2 v PFC a zvýšení v ST |
| Majcher-Maślanka et al., 2017 | Snížení D5 v PLC a D3 v ST Zvýšení D2 v PLC a D1 v ST |
| Li et al., 2013 | Snížení D2 v NAc a hipokampu |
| Hill et al., 2014 | Zvýšení D2 a D3 v NAc a mPFC |
| de Souza et al., 2018 | Zvýšení D1 a D2 v mozkovém kmeni |

Z tabulky 2 je zřejmé, že některé studie docházejí k protichůdným závěrům. Například byly zaznamenány změny v expresi D2 receptoru v NAc u MS. Studie Gracia-Rubio et al., 2016 a Li et al., 2013 však informují o snížení exprese tohoto receptoru v NAc, ale studie Hill et al., 2014 naopak o zvýšení exprese v této oblasti. Proč dospěly tyto studie k rozdílným výsledkům není zřejmé. Mohlo by to být způsobené rozdílnými délkami MS. Hill et al., 2014 použili kratší separace než Gracia-Rubio et al., 2016 a Li et al., 2013. Spolehlivost získaných odlišných

výsledků by bylo vhodné potvrdit dalšími výzkumy, které by se zaměřily na systematické testování významu délky MS.

Dalšími účinky MS na DA systém jsou změněné bazální hladiny DA v ST a PFC u dospívajících hlodavců vystavených MS (Llorente et al., 2010). A může také docházet k redukci glutamátem stimulovaného uvolňování DA z NAc (Dimatelis et. al., 2018).

Hlodavci, na kterých byl prováděn výzkum a byli podrobeni MS, mohou při testech na kognitivní schopnosti v dospělosti vykazovat zvýšenou reaktivitu k novosti, která se odráží ve zvýšené lokomotorické aktivitě. U hlodavců s časnou deprivací se projevuje i zvýšená citlivost k návykovým látkám (Brake et al., 2004; Rentesi et al., 2013). Díky snížené aktivitě mesolimbického DA systému bylo pozorováno i časté depresivní chování (Jahng et al., 2010) nebo zvýšené konzumování alkoholu. Zvýšená aktivita tohoto systému může také souviset s psychiatrickým onemocněním typu schizofrenie (Rentesi et al., 2013).

3.2. Serotoninergní signální dráha

Serotonin (5-HT) patří mezi aminové neuropřenašeče. Je jednou z klíčových molekul zapojených do tvorby nervových obvodů. 5-HT neurony se vyskytují v rafeálních jádrech (nuclei raphe) středního mozku, včetně dorzálního rafeálního jádra (DRN) a středního rafeálního jádra. Rafeální jádra inervují oblasti téměř celého mozku, mezi nimi je AMY, HIP a mPFC (Nicholls et. al., 2001). 5-HT ovlivňuje tvorbu synapsí a tvar dendritických stromů některých neuronů (Murrin et. al., 2007). 5-HT synapse hrají ústřední roli v nervových obvodech, které řídí náladu a temperament (Andrews et. al., 2015). Narušení 5-HT dráhy může tedy vést ke změnám nálad a depresím (Shikanai et. al., 2013).

MS ovlivňuje hladiny 5-HT a jeho metabolitu 5-HIAA (Arborelius & Eklund, 2007) v různých oblastech mozku (tabulka 3.). Můžeme se setkat s protichůdnými výsledky různých studií, což nám naznačuje, že účinek MS může záviset na mnoha faktorech. Jsou studie, které nezjistily žádné signifikantní rozdíly mezi množstvím 5-HT v PFC, HIP a hypotalamu skupiny potkanů sloužící jako kontrola a skupiny vystavené MS (O'Mahony et al., 2008). Naopak například Xue et. al., 2013 pozorovaly zvýšené hladiny 5-HT v PFC a NAc.

MS má vliv na serotoninové receptory. Může snižovat vazbu 5-HT na 5-HT_{1A} receptor (Franklin et. al., 2011) a může měnit aktivitu receptoru 5-HT_{2A} (Sood et. al., 2018). Jakými mechanismy MS mění aktivitu receptorů není zatím zcela jasné. Je možná, že změna aktivity 5-HT_{2A} je způsobená změnou exprese několika genů, které souvisí s G α (q) a Ca²⁺ signalizací

v mPFC mláďat potkanů (Proulx, et. al., 2014). Je však zapotřebí dalšího výzkumu mechanismů vlivu MS na 5-HT receptory.

Tab 3. Přehled studií vypovídajících o vlivu MS na hladiny 5-HT v mozku.

| Studie | Změny hladiny 5-HT v oblastech mozku po MS |
|------------------------|---|
| O'Mahony et al., 2008 | bez významné změny |
| Lee et al., 2007 | Snížení 5-HT v HIP |
| Franklin et. al., 2011 | Zvýšení 5-HT v PFC |
| Xue et al., 2013 | Zvýšení 5-HT v PFC a NAc |
| Ognibene et al., 2008 | Zvýšení 5-HT v HIP, PFC a ST |
| Llorente et al., 2010 | Zvýšení 5-HT v st a DRN |

Další z možností, jak MS může ovlivňovat 5-HT dráhu, je působení na serotoninový transportér (SERT) (Houwing et. al., 2019). SERT reguluje synaptické koncentrace a signalizaci 5-HT (Andrews et al., 2015). Důležitá je krátká alela jednoho z genů serotoninového transportéru (genu 5-HTTLPR). Lidé s touto alelou, kteří prožili časný stres, mohou trpět depresí, úzkostí a agresivitou (Caspi et al., 2003). Výzkum se provádí také na heterozygotních SERT knockoutovaných potkanech, kteří jsou podobní lidským nosičům alely (Kalueff et. al., 2010). Existuje zatím málo důkazů, jak vztah mezi MS a SERT funguje a je zapotřebí více výzkumu zaměřených na to, zda a jak MS ovlivňuje SERT.

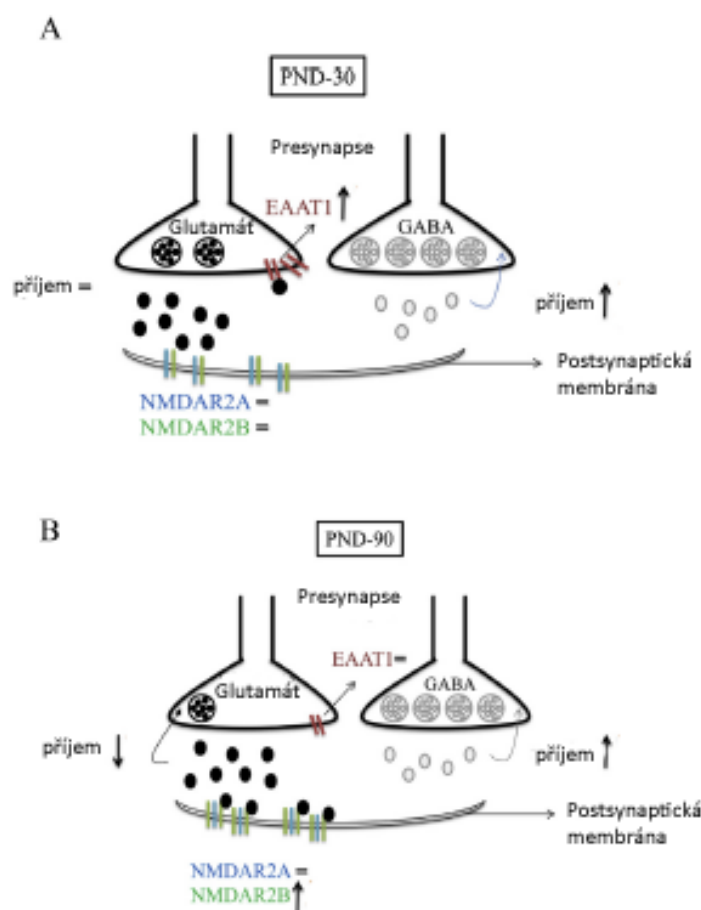
3.3. GABAergní signální dráha

Kyselina γ -aminomáselná (GABA) je hlavním inhibičním neuropřenašečem v mozku. Je uvolňována na inhibičních synapsích v mnoha oblastech mozku. Existují 3 třídy receptorů pro GABA, jsou to GABA_A, GABA_B a GABA_C receptory. GABA_A a GABA_C jsou ionotropní receptory a GABA_B je metabotropní receptor. GABA_A receptor je složen z podjednotek čtyř typů: α , β , γ a δ . Každý typ má mnoho variant a to vede k tvorbě GABA_A receptorů s různými kombinacemi podjednotek a částečně odlišných vlastností (Nicholls et. al., 2001).

MS může působit na GABA dráhy v mozku přímo na úrovni GABA_A receptoru. Bylo totiž zjištěno že, časný životní stres vyvolává přetrvávající změny mimo jiné tím, že snižuje vazbu GABA k GABA_A receptoru v bazolaterálním a centrálním jádru AMY a v locus coeruleus. A to

může vést například ke zvýšenému reagování na stres (Diorio & Meaney, 2007). Dále může vlivem MS docházet ke změně kompozice podjednotek tohoto receptoru, například ke zvýšení mRNA $\alpha 1$ podjednotky v AMY, PFC, HIP a locus coeruleus v mozgovém kmeni (Caldji et. al., 2003).

Dalším efektem MS na GABA v mozku může být opoždění funkčního přepnutí GABA v HIP (Furukawa et al., 2017). K funkčnímu přepnutí GABA (tzv. GABA switch) dochází během prvního až druhého postnatálního týdne a dojde ke změně excitační funkce na inhibiční funkci GABA (Han et. al., 2015). MS také zvyšuje buněčnou proliferaci a podporuje diferenciaci nově vzniklých buněk na GABA neurony. Tím i zvyšuje GABA v pyramidálních buňkách páte kortikální vrstvy (Feng et al., 2014). To může způsobit narušení kognitivních schopností, obzvláště schopnost učit se (Smith, 2013). Kromě toho MS může zvyšovat příjem GABA zpět do presynaptického neuronu (obrázek 4) a svými efekty na GABA systém snižovat schopnost péče sám o sebe v dospělosti (Pesarico et al., 2017).



Obr. 4 Schéma ilustrující glutamatergní a GABAergní synapse u potkanů vystavených MS a účinky MS v PFC potkanů v PND-30 (A) a 90 (B). Převzato a upraveno z (Pesarico et al., 2017).

3.4. Glutamatergní signální dráha

Glutamát je hlavní excitační neurotransmitter v CNS a glutamatergní systém hraje klíčovou roli v mechanismech formování paměti a pozornosti. Glutamát je vysoce zastoupen v mozkové kůře a limbických oblastech mozku. Při vývoji mozku významně ovlivňuje neuronální migraci, diferenciaci a přežití. Účinek glutamátu je zprostředkován několika receptory. Nejvíce studovanými jsou receptory, se nazývaných podle svých agonistů, a to kyseliny α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionové (AMPA) a N-methyl-D-aspartátové (NMDA) (Meldrum, 2000). Abnormality v expresi těchto receptorů bývají spojovány s poruchami nálad (Kristiansen & Meador-Woodruff, 2005; Morley-Fletcher et al., 2018). Důležitou roli v glutamatergní signalizaci hrají i glutamátové transportéry (transportéry excitačních aminokyselin, EAAT), které vychytávají část glutamátu zpět do presynaptického neuronu. Udržují tak koncentrace glutamátu v extracelulárním prostoru na nízkých fyziologických úrovních.

Časný stres interferuje s glutamatergním systémem v mozku. V jeho důsledku může například dojít ke snížení poměru NMDA/AMPA receptorů v HIP (Pillai et al., 2018). Poletti et al., 2019 ve své studii zase zjistili sníženou expresi EAAT2 transportéru vlivem nežádoucích zkušeností v dětství u pacientů s bipolární poruchou. Časný stres může tedy mít vliv na receptory i transportéry glutamatergního systému. Přímý vliv MS však ještě není dostatečně prozkoumán. Existuje jedna studie zabývající se MS, která dokonce došla k rozdílnému závěru než studie zaměřující se na jiné modely časného stresu. Martisova et al., 2012 pozorovali u potkanů vystavených MS zvýšenou expresi EAAT2 v HIP těchto potkanů. To se liší od výsledků práce Poletti et al., 2019, ale tento rozdíl může být způsoben rozdílnými materiály a přístupy v těchto studiích. Hlavním rozdílem je, že Poletti et al., 2019 prováděli výzkum na lidech trpících bipolární poruchou, kteří prožili časný životní stres, zatímco Martisova et al., 2012 prováděli výzkum na potkanech vystavených MS. Martisova et al., 2012 zkoumali vliv MS i na další transportéry a některé receptory. Zjistili snížení hustoty transportérů VGlut1 a VGlut2 v HIP. U receptorů našli změny v zastoupení podjednotek, a to zvýšení podjednotek NR1, NR2 v receptoru NMDA a GLuR4 v receptoru AMPA.

Některé další studie používající modelu MS našly také určité změny u NMDA receptorů. Ke zvýšení hladiny NMDA receptorů došlo v PFC potkanů (obrázek 4), což má souvislost se snížením tzv. grooming, tedy péčí sama o sebe v dospělosti (Pesarico et al., 2017). Bylo také zjištěno, že důsledkem prodloužené MS u myši může být snížení exprese Grin2b podjednotky

NMDA receptoru v hypotalamu. Na druhé straně však nebyl pozorován vliv MS na tyto receptory lokalizované v kortexu a HIP (Reshetnikov et al., 2018).

3.5. Oxytocinergní a vasopresinergní signální dráha

Oxytocin (OT) a vasopresin (VSP) jsou neuropeptidové neurohormony a neuropřenašeče. Jsou důležitými regulátory sociálního chování (Donaldson & Young, 2008). OT a VSP jsou syntetizovány v magnocelulárních neuronech v PVN a supraoptickém jádru hypotalamu. Jsou transportovány do zadní hypofýzy, odkud jsou uvolňovány do periferií a plní úlohu jako hormony (Sofroniew, 1983). Jako neuropřenašeče zasahují do určitých oblastí mozku. Například zasahují do AMY a upravují sociální kognici (Donaldson & Young, 2008).

Důležité je, že vasopresin má tendenci vykazovat anxiogenní účinky, zatímco oxytocin působí anxiolyticky, a tento rozdíl pravděpodobně přispívá ke kontrastním sociálním účinkům těchto neuropeptidů (Neumann & Landgraf, 2012). Oxytocin také vykazuje antinociceptivní vlastnosti, které mohou být ovlivněny MS (Goumon et al., 2018).

Expozice maternální separaci narušuje vývoj OT a VSP receptorů a nízké hladiny maternální péče jsou spojeny se změnami hustoty OT a VSP receptorů v některých oblastech mozku (Lukas et. al., 2010). MS může například snížit hustotu OT v parvocelulárních neuronech v PVN u obou pohlaví a také zvýšit hustotu VSP v magnocelulárních neuronech v PVN samců (Todeschin et al., 2009). Skrze tyto vlivy může MS způsobovat změny v sociálním chování, jehož vývoj je spjat s vývojem oxytocinových a vasopresinových neuronů. Potvrzením, že tyto efekty MS souvisí s OT systémem, je fakt, že po aplikování OT do zvířat vystavených MS došlo ke zmírnění negativních účinků MS na mozek a na chování zvířat (Amini-Khoei et. al, 2017). Snížením aktivity OT systému, může MS také snížit práh bolesti (Amini-Khoei et al., 2017).

3.6. Cholinergní signální dráha

Neuropřenašeč acetylcholin (ACh) zprostředkovává přenosy vzruchu v periferní a centrální nervové soustavě. Dva typy receptorů tvoří postsynaptickou složku cholinergního přenosu, a to nikotinové acetylcholinové receptory a muskarinové acetylcholinové receptory. Cholinergní neurony se nacházejí v jádrech rozptýlených po celém mozku a jejich axony inervují většinu oblastí CNS. Jádra v bazální části předního mozku zprostředkovávají významné cholinergní vstupy do kortexu a HIP. Především jde o septální jádra a jádra bazální. Výběžky

těchto jader inervují mozkovou kůru, HIP, AMY, hypothalamus a mozkový kmen. (Colangelo et. al., 2019; Nicholls et al., 2001).

ACh hraje klíčovou roli v řadě fyziologických procesů, včetně učení a paměti (Mohapel et. al., 2005). Cholinergní systém bazálních struktur předního mozku je význačným místem degenerativních změn Alzheimerovy choroby (AD). V průběhu onemocnění dochází k degeneraci neuronů v nucleus basalis Meynerti (Winkler et. al, 1998). A právě nucleus basalis Meynerti je hlavním místem vzniku cholinergní projekce do mozkové kůry (Gratwicke et al., 2013).

Hui et al., 2017 ve své studii prokázaly souvislost mezi MS a AD. MS totiž způsobuje stejné dva neuropatologické znaky jako AD, a to ztrátu cholinergních neuronů a vznik senilních plaků. Zkoumané myši v této studii, které byly podrobené MS, měly oproti kontrolní skupině myší zvýšené uložení plaků v mozkové kůře a HIP, a také nižší počet cholinergních neuronů v nucleus basalis Meynerti. Snížený počet neuronů byl prokázán sníženou hladinou cholinacetyltransferázy. Cholinacetyltransferáza je enzym zodpovědný za biosyntézu ACh a využívá se jako indikátor funkčního stavu cholinergních neuronů v nervovém systému (Hui et al., 2017).

Vlivem MS dochází ke změnám hustoty cholinergních neuronů nejen v nucleus basalis Meynerti, ale i v dalších oblastech mozku. Studie Marković et al., 2014 na potkanech se na rozdíl od Hui et al., 2017 nezaměřila pouze na cholinacetyltransferázu, ale i na acetylcholinesterázu, což je enzym působící degradaci ACh. Marković et al., 2014 došli k závěru, že aktivita acetylcholinesterázy se může působením MS snížit v kortexu, a naopak se zvýšit v HIP. Měřením hustoty nervových vláken pozitivních na cholinacetyltransferázu zjistili zvýšení cholinergních vláken v HIP a snížení v kortexu (Marković et al., 2014). Důvodem nárůstu cholinergních neuronů v HIP může být fakt, že MS zvyšuje expresi nervového růstového faktoru v HIP (Cirulli et al., 1998).

Co se tedy týká patologického působení, MS skrze svůj vliv na cholinergní signální dráhu v mozku může způsobovat vážný deficit učení a ovlivnit paměťové funkce v dospělosti (Benetti et al., 2009), a také navozovat analogické patologické změny jako AD (Hui et al., 2017). Kromě toho může mít vliv i na vznik chorob souvisejících s alkoholismem v dospělosti. Časný stres totiž může ovlivnit NAc zprostředkované modulace v cholinergním výstupu z bazálních struktur předního mozku, a to zvyšuje riziko vzniku alkoholismu v dospělosti (Holgate & Bartlett, 2015). Zda a v jakém rozsahu takto MS působí, je potřeba ještě řádně prozkoumat.

Stejně tak nejsou dosud objasněny molekulární mechanismy výše zmíněných efektů. Je však patrné, že MS způsobuje dlouhodobé strukturní změny cholinergního systému.

3.7. Opioidní signální dráha

Opioidní neuropřenašeče se řadí mezi peptidy a váží se na opioidní receptory. Hlavními opioidními neurotransmitery jsou enkefaliny, endorfiny a dynorfiny. Jsou zapojeny do procesů bolesti a vyskytují se v oblastech mozku, u kterých je známa jejich role ve vnímání bolesti (Fields & Basbaum, 1978). Enkefalin blokuje výlev substance P a váže se na opioidní receptory podtypu μ . Další opioidní peptidy se vážou na receptory podtypu κ nebo δ (Macdonald & Werz, 1986; Werz & Macdonald, 1983). Endogenní opioidy se nezapojují jen do procesů bolesti, ale i do dalších fyziologických funkcí, jako je třeba regulace odměny a nálady. V dráze odměny přispívají k uvolňování dopaminu z NAc (Spanagel & Weiss, 1999).

Existují důkazy, že časný stres působí na opioidní dráhu v mozku. Může například měnit hladiny mRNA opioidních receptorů v NAc (Chang et al., 2019). Bohužel studií je zatím málo, a ještě méně je těch, které využívají jako model časného stresu typu MS. Mezi těmi, které využily MS je například studie Amini-Khoei et al., 2017, která naznačuje, že MS způsobuje abnormality v opioidním systému, a tak může měnit náchylnost k záchvatům v dospělosti nebo i snížit práh bolesti. Tato studie však nevypovídá o konkrétních mechanismech, jak MS na tento systém působí. Studie Weaver et. al., 2007 zase poukazuje na to, že MS může působit na opioidní receptory potkanů a to konkrétně zvýšit vazbu opioidů k μ receptorům v mediálním preoptickém jádru v hypotalamu. Existuje i důkaz toho, že by MS mohla působit na expresi opioidních genů v ST a AMY u potkanů (Granholm et al., 2017).

Časný stres a MS mohou působením na opioidní signální dráhu narušit procesy souvisejících s bolestí, náladou a systémem odměny. Jedním z dlouhodobých důsledků pak může být i nadměrné užívání alkoholu a nemocí s tím spojených v dospělosti (Granholm et al., 2017). Existuje však doposud málo informací, jakým způsobem časný stres a MS působí a v této oblasti je proto potřeba více dalších výzkumů.

3.8. Endokanabinoidní signální dráha

Endokanabinoidní (eCB) systém je neuromodulační systém v mozku, který primárně působí jako retrográdní signalizační systém, který brání synaptickému uvolňování mnoha neurotransmiterů. Specifické účinky eCB jsou zprostředkované aktivací kanabinoidních

receptorů typu 1 (CB1) a 2 (CB2). CB1 receptory se nacházejí ve velkém množství v CNS, zatímco CB2 jsou přítomny na neuronech periferního nervového systému. CB1 receptory jsou převážně exprimovány presynapticky na GABA neuronech. Jsou však exprimovány i na glutamatergních, dopaminergních, serotoninergních, cholinergních a na řadě dalších neuronů v celém mozku. Aktivace CB1 receptoru se zdá být důležitá pro mnoho fyziologických procesů jako je učení, adaptace a vnímání bolesti (Mechoulam & Parker, 2013; Zou & Kumar, 2018).

Není mnoho studií, které se zabývají přímo vlivem MS na eCB systém v mozku, a nevyužívají jiných modelů časného stresu. Avšak některé, a to především z posledních let, si daly za cíl vliv MS objasnit. Jedna z nejnovějších studií provedená na potkanech, zkoumala vliv MS na eCB v rámci kortikolimbických struktur, a to konkrétně hustotu CB1 receptoru. (Hill et al., 2019). Ke snížení hustoty receptoru došlo v PFC, AMY a HIP. Tito autoři zjistili, že nejvíce citlivý na MS v postnatálním vývoji byl HIP, ve kterém došlo k největšímu poklesu CB1 receptoru a tyto změny přetrvávaly až do dospělosti. Výsledky této studie se z většiny shodují se závěry studie Portero-Tresserra et al., 2018. Tito badatelé popsali pokles hladin eCB v ST a PFC myši vystavených MS. V této studii je také diskutována možnost, že pozorované změny v eCB systému mohou přispět ke vzniku úzkostného chování a mohou ovlivnit emocionální reakce v dospělosti (Portero-Tresserra et al., 2018). Nicméně je potřeba dalšího výzkumu, aby se mohly výše uvedené efekty MS na eCB systém potvrdit. Takový výzkum je vzhledem k významnému vlivu eCB systému na další neurotransmiterové systémy velmi žádoucí.

4. Závěr

Tato práce shrnuje aktuální poznatky o vlivu maternální separace na neurotransmiterové dráhy v mozku a zmiňuje také pozorované změny na behaviorální úrovni. Současně upozorňuje na dosavadní nedostatky při výzkumu tohoto modelu časného stresu.

Z důvodu používání různých modelových organismů a velké škály časných stresových podmínek je vyhodnocování (pato)fyzilogických dopadů tohoto modelu poměrně náročné. Je proto potřeba rozvíjet zejména výzkumy, které budou založeny na podobných parametrech, aby se mohly sjednotit znalosti o tomto paradigmatu. Nejvíce dosavadních studií se zabývá hlavně behaviorálními efekty, a do budoucna by se měl klást větší důraz i na zkoumání dopadu maternální separace na funkci neurochemických systémů, které způsobující změny v chování a možné psychopatologie. Dále rozvíjeny by měly být především výzkumy týkající se vlivu časného stresu na možný pozdější vznik a vývoj závažných onemocnění, jako je schizofrenie nebo Alzheimerova choroba. Budoucí výzkum modelu maternální separace může významně přispět k objasnění dopadu časného stresu na vývoj a fungování mozku.

5. Seznam použité literatury

- Amini-Khoei, H., Amiri, S., Mohammadi-Asl, A., Alijanpour, S., Poursaman, S., Haj-Mirzaian, A., Rastegar, M., Mesdaghinia, A., Banafshe, H. R., Sadeghi, E., Samiei, E., Mehr, S. E., Dehpour, A. R. (2017). Experiencing neonatal maternal separation increased pain sensitivity in adult male mice: Involvement of oxytocinergic system. *Neuropeptides*, 61, 77–85.
- Amini-Khoei, H., Amiri, S., Shirzadian, A., Mohammadi-Asl, A., Alijanpour, S., Rahimi-Balaei, M., Haj-Mirzaia, A., Mehr, S. E., Dehpour, A. R. (2017). Experiencing neonatal maternal separation increased pain sensitivity in adult male mice: Involvement of the opioid. *Neuropeptides*, 61, 77–85.
- Amini-Khoei, H., Mohammadi-Asl, A., Amiri, S., Hosseini, M. J., Momeny, M., Hassanipour, M., Rastegar, M., Haj-Mirzaia, A., Sanjarimoghaddam, H., Mehr, S. E., Dehpour, A. R. (2017). Oxytocin mitigated the depressive-like behaviors of maternal separation stress through modulating mitochondrial function and neuroinflammation. *Progress in Neuropsychopharmacology & Biological Psychiatry*, 76, 169–178.
- Andersen, S. L. (2003). Trajectories of brain development: Point of vulnerability or window of opportunity? *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 27(1–2), 3–18.
- Andrews, P. W., Bharwani, A., Lee, K. R., Fox, M., & Thomson, J. A. (2015). Is serotonin an upper or a downer? The evolution of the serotonergic system and its role in depression and the antidepressant response. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 51, 164–188.
- Arborelius, L., & Eklund, M. B. (2007). Both long and brief maternal separation produces persistent changes in tissue of brain monoamines in middle-aged female rats. *Neuroscience*, 145(2), 738–750.
- Atkinson, H. C., & Waddell, B. J. (1997). Circadian Variation in Basal Plasma Corticosterone and Adrenocorticotropin in the Rat: Sexual Dimorphism and Changes across the Estrous Cycle. *Endocrinology*, 138(9), 3842–3848.
- Barbazanges, A., Vallé, M., Mayo, W., Day, J., Simon, H., Le Moal, M., & Maccari, S. (1996). Early and Later Adoptions Have Different Long-Term Effects on Male Rat Offspring. *Journal of Neuroscience*, 16(23), 7783–7790.
- Benetti, F., Mello, P. B., Bonini, J. S., Monteiro, S., Cammarota, M., & Izquierdo, I. (2009).

- Early postnatal maternal deprivation in rats induces memory deficits in adult life that can be reversed by donepezil and galantamine. *International Journal of Developmental Neuroscience*, 27(1), 59–64.
- Björklund, A., & Dunnett, S. B. (2007). Dopamine neuron systems in the brain: an update. *Trends in Neuroscience*, 30(5), 194–202.
- Brake, W. G., Zhang, T. Y., Diorio, J., Meaney, M. J., & Gratton, A. (2004). Influence of early postnatal rearing conditions on mesocorticolimbic dopamine and behavioural responses to psychostimulants and stressors in adult rats. *European Journal of Neuroscience*, 19(7), 1863–1874.
- Brunson, K. L., Avishai-Eliner, S., Hatalski, C. G., & Baram, T. Z. (2001). Neurobiology of the stress response early in life: evolution of a concept and the role of corticotropin releasing hormone. *Molecular Psychiatry*, 6(6), 647–656.
- Caldji, C., Diorio, J., & Meaney, M. J. (2003). Variations in Maternal Care Alter GABAA Receptor Subunit Expression in Brain Regions Associated with Fear. *Neuropsychopharmacology*, 28(11), 1950–1959.
- Caldji, C., Tannenbaum, B., Sharma, S., Francis, D., Plotsky, P. M., & Meaney, M. J. (1998). Maternal care during infancy regulates the development of neural systems mediating the expression of fearfulness in the rat. *Neurobiology*, 95(9), 5335–5340.
- Caspi, A., Sugden, K., Moffitt, T. E., Taylor, A., Craig, I. W., Harrington, H. L., ... Poulton, R. (2003). Influence of life stress on depression: Moderation by a polymorphism in the 5-HTT gene. *Science*, 301(5631), 386–389.
- Chang, L., Kigar, S. L., Ho, J. H., Cuarenta, A., Gunderson, H. C., Baldo, B. A., ... Auger, A. P. (2019). Early life stress alters opioid receptor mRNA levels within the nucleus accumbens in a sex-dependent manner.
- Chocyk, A., Przyborowska, A., Dudys, D., Majcher, I., Maćkowiak, M., & Wedzony, K. (2011). The impact of maternal separation on the number of tyrosine hydroxylase-expressing midbrain neurons during different stages of ontogenesis. *Neuroscience*, 182, 43–61.
- Cirulli, F., Micera, A., Alleva, E., Aloe, L., Cirulli, F., Micera, A., ... Early, L. A. (1998). Early Maternal Separation increases NGF Expression in the Developing Rat Hippocampus. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 59(4), 853–858.

- Colangelo, C., Shichkova, P., Keller, D., Markram, H., & Ramaswamy, S. (2019). Cellular, Synaptic and Network Effects of Acetylcholine in the Neocortex. *Frontiers in Neural Circuits*, 13(24), 1–27.
- Cole, R. L., & Sawchenko, P. E. (2002). Neurotransmitter Regulation of Cellular Activation and Neuropeptide Gene Expression in the Paraventricular Nucleus of the Hypothalamus. *Journal of Neuroscience*, 22(3), 959–969.
- Cunningham, E. T., & Sawchenko, E. P. (1988). Anatomical specificity of noradrenergic inputs to the paraventricular and supraoptic nuclei of the rat hypothalamus. *The Journal of Comparative Neurology*, 274(1), 60–76.
- Dallman, M. F., Akana, S. F., Cascio, C. S., Darlington, D. N., Jacobson, L., & Levin, N. (1987). Regulation of ACTH Secretion: Variations on a Theme of B. *Recent Progress In Hormone Research*, 43, 113–173.
- Dayas, C. V., Buller, K. M., Crane, J. W., Xu, Y., & Day, T. (2001). Stressor categorization: acute physical and psychological stressors elicit distinctive recruitment. *European Journal of Neuroscience*, 14(7), 1143–1152.
- de Goeij, D. C. E., Kvetnansky, R., Whitnall, M. H., Jezova, D., Berkenbosch, F., & Tilders, F. J. H. (1991). Repeated Stress-Induced Activation of Corticotropin-Releasing Factor Neurons Enhances Vasopressin Stores and Colocalization with Corticotropin-Releasing Factor in the Median Eminence of Rats. *Neuroendocrinology*, 53(2), 150–159.
- de Souza, J. A., da Silva, M. C., de Matos, R. J. B., do Amaral Almeida, L. C., Beltrão, L. C., de Souza, F. L., ... de Souza, S. L. (2018). Pre-weaning maternal separation increases eating later in life in male and female offspring, but increases brainstem dopamine receptor 1a and 2a only in males. *Appetite*, 123, 114–119.
- Decavel, C., & Van Den Pol, A. N. (1990). GABA: A dominant neurotransmitter in the hypothalamus. *The Journal of Comparative Neurology*, 302(4), 1019–1037.
- Dimatelis, J. J., Mtintsilana, A., Naidoo, V., Stein, D. J., & Russell, V. A. (2018). Chronic light exposure alters serotonergic and orexinergic systems in the rat brain and reverses maternal separation-induced increase in orexin receptors in the prefrontal cortex. *Metabolic Brain Disease*, 33(2), 433–441.
- Diorio, J., & Meaney, M. J. (2007). Maternal programming of defensive responses through

- sustained effects on gene expression. *Journal of Psychiatry & Neuroscience*, 32(4), 275.
- Donaldson, Z. R., & Young, L. J. (2008). Oxytocin, vasopressin, and the neurogenetics of sociality. *Science*, 322(5903), 900–904.
- Feng, M., Sheng, G., Li, Z., Wang, J., Ren, K., Jin, X., & Jiang, K. (2014). Postnatal maternal separation enhances tonic GABA current of cortical layer 5 pyramidal neurons in juvenile rats and promotes genesis of GABAergic neurons in neocortical molecular layer and subventricular zone in adult rats. *Behavioural Brain Research*, 260, 74–82.
- Fields, H. L., & Basbaum, A. I. (1978). Brainstem Control of Spinal Pain-Transmission Neurons. *Annual Review of Physiology*, 40(1), 217–248.
- Franklin, T. B., Linder, N., Russig, H., Thö Ny, B., & Mansuy, I. M. (2011). Influence of Early Stress on Social Abilities and Serotonergic Functions across Generations in Mice. *Plos One*, 6(7), 1–7.
- Furukawa, M., Tsukahara, T., Tomita, K., Iwai, H., Sonomura, T., Miyawaki, S., & Sato, T. (2017). Neonatal maternal separation delays the GABA excitatory-to-inhibitory functional switch by inhibiting KCC2 expression. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 493(3), 1243–1249.
- Goumon, Y., Juif, P. E., Charlet, A., Lacaud, A., Petit-Demoulière, N., Chavant, V., ... Poisbeau, P. (2018). Pharmacological rescue of nociceptive hypersensitivity and oxytocin analgesia impairment in a rat model of neonatal maternal separation. *Pain*, 159(12), 2630–2640.
- Gracia-Rubio, I., Valverde, O., Martinez-Laorden, E., Moscoso-Castro, M., Milanés, M. V., & Laorden, M. L. (2016). Maternal separation impairs cocaine-induced behavioural sensitization in adolescent mice. *Plos One*, 11(12), 1–20.
- Granholm, L., Todkar, A., Bergman, S., Nilsson, K., Comasco, E., & Nylander, I. (2017). The expression of opioid genes in non-classical reward areas depends on early life conditions and ethanol intake. *Brain Research*, 1668, 36–45.
- Gratwicke, J., Kahan, J., Zrinzo, L., Hariz, M., Limousin, P., Foltynie, T., & Jahanshahi, M. (2013). The nucleus basalis of Meynert: A new target for deep brain stimulation in dementia? *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 37(10), 2676–2688.
- Han, B., Bellemer, A., & Koelle, M. R. (2015). An Evolutionarily Conserved Switch in Response

- to GABA Affects Development and Behavior of the Locomotor Circuit of *Caenorhabditis elegans*. *Genetics*, 199(4), 1159–1173.
- Han, F., Ozawa, H., Matsuda, K., Nishi, M., & Kawata, M. (2005). Colocalization of mineralocorticoid receptor and glucocorticoid receptor in the hippocampus and hypothalamus. *Neuroscience Research*, 51(4), 371–381.
- Heim, C., Owens, M., Plotsky, P. M., & Nemeroff, C. B. (1997). Persistent changes in corticotropin-releasing factor systems due to early life stress: Relationship to the pathophysiology of major depression and post-traumatic stress disorder. *Psychopharmacology Bulletin*, 33(2), 185–192.
- Herman, J. P., Figueiredo, H., Mueller, N. K., Ulrich-Lai, Y., Ostrander, M. M., Choi, D. C., & Cullinan, W. E. (2003). Central mechanisms of stress integration: hierarchical circuitry controlling hypothalamo-pituitary-adrenocortical responsiveness. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 24(3), 151–180.
- Hill, M. N., Eiland, L., Lee, T. T. Y., Hillard, C. J., & McEwen, B. S. (2019). Early life stress alters the developmental trajectory of corticolimbic endocannabinoid signaling in male rats. *Neuropharmacology*, 146, 154–162.
- Hill, R. A., Von Soly, S. K., Ratnayake, U., Klug, M., Binder, M. D., Hannan, A. J., & Van Den Buuse, M. (2014). Long-term effects of combined neonatal and adolescent stress on brain-derived neurotrophic factor and dopamine receptor expression in the rat forebrain. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1842(11), 2126–2135.
- Holgate, J. Y., & Bartlett, S. E. (2015). Early life stress, nicotinic acetylcholine receptors and alcohol use disorders. *Brain Sciences*, 5(3), 258–274.
- Hollenberg, S. M., Weinberger, C., Ong, E. S., Cerelli, G., Oro, A., Lebo, R., ... Evans, R. M. (1985). Primary structure and expression of a functional human glucocorticoid receptor cDNA. *Nature*, 318(6047), 635–641.
- Houwing, D. J., Buwalda, B., van der Zee, E. A., de Boer, S. F., & Olivier, J. D. A. (2017). The Serotonin Transporter and Early Life Stress: Translational Perspectives. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 11, 1–17.
- Houwing, D. J., Ramsteijn, A. S., Riemersma, I. W., & Olivier, J. D. A. (2019). Maternal separation induces anhedonia in female heterozygous serotonin transporter knockout

- rats. *Behavioural Brain Research*, 356, 204–207.
- Hui, J., Feng, G., Zheng, C., Jin, H., & Jia, N. (2017). Maternal separation exacerbates Alzheimer's disease-like behavioral and pathological changes in adult APPswe/PS1dE9 mice. *Behavioural Brain Research*, 318, 18–23.
- Jahng, J. W., Ryu, V., Yoo, S. B., Noh, S. J., Kim, J. Y., & Lee, J. H. (2010). Mesolimbic dopaminergic activity responding to acute stress is blunted in adolescent rats that experienced neonatal maternal separation. *Neuroscience*, 171(1), 144–152.
- Kalueff, A. V., Olivier, J. D. A., Nonkes, L. J. P., & Homberg, J. R. (2010). Conserved role for the serotonin transporter gene in rat and mouse neurobehavioral endophenotypes. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 34(3), 373–386.
- Kristiansen, L. V., & Meador-Woodruff, J. H. (2005). Abnormal striatal expression of transcripts encoding NMDA interacting PSD proteins in schizophrenia, bipolar disorder and major depression. *Schizophrenia Research*, 78(1), 87–93.
- Lee, J. H., Kim, J., Kim, J. G., Ryu, V., Kim, B. T., Kang, D. W., & Jahng, J. W. (2007). Depressive behaviors and decreased expression of serotonin reuptake transporter in rats that experienced neonatal maternal separation. *Neuroscience Research*, 58(1), 32–39.
- Li, M., Xue, X., Shao, S., Shao, F., & Wang, W. (2013). Cognitive, emotional and neurochemical effects of repeated maternal separation in adolescent rats. *Brain Research*, 1518, 82–90.
- Llorente, R., O'Shea, E., Gutierrez-Lopez, M. D., Llorente-Berzal, A., Colado, M. I., & Viveros, M. P. (2010). Sex-dependent maternal deprivation effects on brain monoamine content in adolescent rats. *Neuroscience Letters*, 479(2), 112–117.
- Lukas, M., Bredewold, R., Neumann, I. D., & Veenema, A. H. (2010). Maternal separation interferes with developmental changes in brain vasopressin and oxytocin receptor binding in male rats. *Neuropharmacology*, 58(1), 78–87.
- Lupien, S. J., McEwen, B. S., Gunnar, M. R., & Heim, C. (2009). Effects of stress throughout the lifespan on the brain, behaviour and cognition. *Nature Reviews Neuroscience*, 10(6), 434–445.
- Macdonald, R. L., & Werz, M. A. (1986). Dynorphin A decreases voltage-dependent calcium

- conductance of mouse dorsal root ganglion neurones. *Journal of Physiology*, 377, 237–249.
- Majcher-Maślanka, I., Solarz, A., Wędzony, K., & Chocyk, A. (2017). The effects of early-life stress on dopamine system function in adolescent female rats. *International Journal of Developmental Neuroscience*, 57, 24–33.
- Mangelsdorf, D. J., Thummel, C., Beato, M., Herrlich, P., Schittq5, G., Umesono, K., ... Evan, R. M. (1995). The Nuclear Receptor Superfamily: The Second Decade. *Cell*, 83(6), 835–839.
- Marković, B., Radonjić, N. V., Aksić, M., Filipović, B., & Petronijević, N. (2014). Long-Term Effects of Maternal Deprivation on Cholinergic System in Rat Brain. *BioMed Research International*, 2014, 1–7.
- Martisova, E., Solas, M., Horrillo, I., Ortega, J. E., Meana, J. J., Tordera, R. M., & Ramírez, M. J. (2012). Long lasting effects of early-life stress on glutamatergic/GABAergic circuitry in the rat hippocampus. *Neuropharmacology*, 62(5–6), 1944–1953.
- Matthews, K., Dalley, J. W., Matthews, C., Tsai, T. H., & Robbins, T. W. (2001). Periodic maternal separation of neonatal rats produces region- and gender-specific effects on biogenic amine content in postmortem adult brain. *Synapse*, 40(1), 1–10.
- McEwen, B. S. (1998). Stress, adaptation, and disease - Allostasis and allostatic load. *Neuroimmunomodulation: Molecular Aspects, Integrative Systems, and Clinical Advances*, 840, 33–44.
- Meaney, M. J., Aitken, D. H., Van Berkel, C., Bhatnagar, S., & Sapolsky, R. M. (1988). Effect of Neonatal Handling on Age-Related Impairments associated with the Hippocampus. *Science*, 239(4841), 766–768.
- Mechoulam, R., & Parker, L. A. (2013). The endocannabinoid system and the brain. *Annual Review of Psychology*, 64(1), 21–47.
- Meldrum, B. S. (2000). Glutamate as a neurotransmitter in the brain: Review of physiology and pathology. *Journal of Nutrition*, 130(4), 1007S–1015S.
- Mohapel, P., Leanza, G., Kokaia, M., & Lindvall, O. (2005). Forebrain acetylcholine regulates adult hippocampal neurogenesis and learning. *Neurobiology of Aging*, 26(6), 939–946.
- Money, K. M., & Stanwood, G. D. (2013). Developmental origins of brain disorders: roles for

- dopamine. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 7, 1–14.
- Morley-Fletcher, S., Zuena, A. R., Mairesse, J., Gatta, E., Van Camp, G., Bouwalerh, H., Riazzi, G., Battaglia, G., Pittaluga, A., Olivero, G., Mocaer, E., Brelin, S., Maccari, S. (2018). The reduction in glutamate release is predictive of cognitive and emotional alterations that are corrected by the positive modulator of AMPA receptors S 47445 in perinatal stressed rats. *Neuropharmacology*, 135, 284–296.
- Murrin, L. C., Sanders, J. D., & Bylund, D. B. (2007). Comparison of the Maturation of the Adrenergic and Serotonergic Neurotransmitter Systems in the Brain: Implications for Differential Drug Effects on Juveniles and Adults. *Biochemical Pharmacology*, 73(8), 1225–1236.
- Nelson, C. A., Bos, K., Gunnar, M. R., & Sonuga-Barke, E. J. S. (2011). The Neurobiological Toll of Early Human Deprivation. *Monographs of the Society for Research in Child Development*, 76(4), 127–146.
- Neumann, I. D., & Landgraf, R. (2012). Balance of brain oxytocin and vasopressin: implications for anxiety, depression, and social behaviors. *Trends in Neurosciences*, 35(11), 649–659.
- Nicholls, J. G., Martin, A. R., Wallace, B. G., & Fuchs, P. A. (2001). *From neuron to brain* (Fourth edi). Sinauer Associates.
- Nieoullon, A., & Coquerel, A. (2003). Dopamine: a key regulator to adapt action, emotion, motivation and cognition. *Current Opinion in Neurology*, 16(2), S3–S9.
- Norris, D. O., & Carr, J. A. (2013). *Vertebrate endocrinology*. (Fifth edit).
- Nylander, I., & Roman, E. (2013). Is the rodent maternal separation model a valid and effective model for studies on the early-life impact on ethanol consumption? *Psychopharmacology*, 229(4), 555–569.
- O’Mahony, S., Chua, A. S. B., Quigley, E. M. M., Clarke, G., Shanahan, F., Keelingà, P. W. N., & Dinan, T. G. (2008). Evidence of an enhanced central 5HT response in irritable bowel syndrome and in the rat maternal separation model. *Neurogastroenterol Motil*, 20(6), 680–688.
- Ognibene, E., Adriani, W., Caprioli, A., Ghirardi, O., Ali, S. F., Aloe, L., & Laviola, G. (2008). The

- effect of early maternal separation on brain derived neurotrophic factor and monoamine levels in adult heterozygous reeler mice. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 32(5), 1269–1276.
- Ohta, K., Miki, T., Warita, K., Suzuki, S., Kusaka, T., Yakura, T., Liu, J. Q., Tamai, M., Takeuchi, Y. (2014). Prolonged maternal separation disturbs the serotonergic system during early brain development. *International Journal of Developmental Neuroscience*, 33(1), 15–21.
- Pacak, K., Palkovits, M., Yadid, G., Kvetnansky, R., Kopin, I. J., & Goldstein, D. S. (1998). Heterogeneous neurochemical responses to different stressors: a test of Selye's doctrine of nonspecificity. *American Journal of Physiology-Regulatory Integrative and Comparative Physiology*, 275(4), R1247–R1255.
- Pena, C. J., Neugut, Y. D., Calarco, C. A., & Champagne, F. A. (2014). Effects of maternal care on the development of midbrain dopamine pathways and reward-directed behavior in female offspring. *European Journal of Neuroscience*, 39(6), 946–956.
- Pesarico, A. P., Rosa, S. G., Stangherlin, E. C., Mantovani, A. C., Zeni, G., & Nogueira, C. W. (2017). 7-Fluoro-1,3-diphenylisoquinoline-1-amine reverses the reduction in self-care behavior induced by maternal separation stress in rats by modulating glutamatergic/GABAergic systems. *Journal of Psychiatric Research*, 89, 28–37.
- Pillai, A. G., Arp, M., Velzing, E., Lesuis, S. L., Schmidt, M. V., Holsboer, F., Joels, M., Krugers, H. J. (2018). Early life stress determines the effects of glucocorticoids and stress on hippocampal function: Electrophysiological and behavioral evidence respectively. *Neuropharmacology*, 133, 307–318.
- Plotsky, P. M., Thrivikraman, K. V., Nemeroff, C. B., Caldji, C., Sharma, S., & Meaney, M. J. (2005). Long-Term Consequences of Neonatal Rearing on Central Corticotropin-Releasing Factor Systems in Adult Male Rat Offspring. *Neuropsychopharmacology*, 30(12), 2192–2204.
- Poletti, S., Bollettini, I., Lorenzi, C., Vitali, A., Brioschi, S., Serretti, A., Colombo, C., Benedetti, F. (2019). White Matter Microstructure in Bipolar Disorder Is Influenced by the Interaction between a Glutamate Transporter EAAT1 Gene Variant and Early Stress. *Molecular Neurobiology*, 56(1), 702–710.

- Portero-Tresserra, M., Gracia-Rubio, I., Cantacorps, L., Pozo, O. J., Gómez-Gómez, A., Pastor, A., López-Arnau, R., de la Torre, R., Valverde, O. (2018). Maternal separation increases alcohol-drinking behaviour and reduces endocannabinoid levels in the mouse striatum and prefrontal cortex. *European Neuropsychopharmacology*, 28(4), 499–512.
- Proulx, É., Suri, D., Heximer, S. P., Vaidya, V. A., & Lambe, E. K. (2014). Early stress prevents the potentiation of muscarinic excitation by calcium release in adult prefrontal cortex. *Biological Psychiatry*, 76(4), 315–323.
- Rentesi, G., Antoniou, K., Marselos, M., Syrrou, M., Papadopoulou-Daifoti, Z., & Konstandi, M. (2013). Early maternal deprivation-induced modifications in the neurobiological, neurochemical and behavioral profile of adult rats. *Behavioural Brain Research*, 244, 29–37.
- Reshetnikov, V. V., Lepeshko, A. A., Ryabushkina, Y. A., Studenikina, A. A., Merkulova, T. I., & Bondar, N. P. (2018). The Long-Term Effects of Early Postnatal Stress on Cognitive Abilities and Expression of Genes of the Glutamatergic System in Mice. *Neurochemical Journal*, 12(2), 142–151.
- Reul, J. M. H. M., & Kloet, E. R. DE. (1985). Two Receptor Systems for Corticosterone in Rat Brain: Microdistribution and Differential Occupation. *Endocrinology*, 117(6), 2505–2511.
- Rodrigues, A., Leão, P., Carvalho, M., Almeida, O. F. X., & Sousa, N. (2011). Potential programming of dopaminergic circuits by early life stress. *Psychopharmacology*, 214(1), 107–120.
- Selye, H. (1950). Stress and the General Adaptation Syndrom. *British Medical Journal*, 1(4667), 1383–1392.
- Selye, H. (1951). The General Adaptation Syndrom. *Annual Review Of Medicine*, 2, 305–306.
- Shikanai, H., Kimura, S., & Togashi, H. (2013). Early Life Stress Affects the Serotonergic System Underlying Emotional Regulation. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 36(9), 1392–1395.
- Smith, S. S. (2013). alpha 4 beta delta GABAA receptors and tonic inhibitory current during adolescence: effects on mood and synaptic plasticity. *Frontiers in Neural Circuits*, 7, 1–16.

- Sofroniew, M. V. (1983). Morphology of Vasopressin and Oxytocin Neurones and Their Central and Vascular Projections. *Progress in Brain Research*, 60(C), 101–114.
- Sood, A., Pati, S., Bhattacharya, A., Chaudhari, K., & Vaidya, V. A. (2018). Early emergence of altered 5-HT 2A receptor-evoked behavior, neural activation and gene expression following maternal separation. *International Journal of Developmental Neuroscience*, 65, 21–28.
- Spanagel, R., & Weiss, F. (1999). The dopamine hypothesis of reward: past and current status. *Trends in Neurosciences*, 22(11), 521–527.
- Spiga, F., & Lightman, S. L. (2015). Dynamics of adrenal glucocorticoid steroidogenesis in health and disease. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 408(C), 227–234.
- Sterling, P., & Eyer, J. (1988). *Handbook of Life Stress, Cognition and Health*. (S. Fisher & J. Reason, Eds.). Copyright 1988 John Wiley & Sons.
- Thrivikraman, K. V., Nemeroff, C. B., & Plotsky, P. M. (2000). Sensitivity to glucocorticoid-mediated fast-feedback regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis is dependent upon stressor specific neurocircuitry. *Brain Research*, 870, 87–101.
- Todeschin, A. S., Winkelmann-Duarte, E. C., Helena, M., Jacob, V., Carlo, B., Aranda, C., Fernandes, M. C., Flavia, M., Ribeiro, M., Sanvitto, G. L. Lucion, A. B. (2009). Effects of neonatal handling on social memory, social interaction, and number of oxytocin and vasopressin neurons in rats. *Hormones and Behavior*, 56(1), 93–100.
- Weaver, S. A., Diorio, J., & Meaney, M. J. (2007). Maternal Separation Leads to Persistent Reductions in Pain Sensitivity in Female Rats. *Journal of Pain*, 8(12), 962–969.
- Werz, M. A., & Macdonald, R. L. (1983). Opioid peptides selective for mu- and delta-opiate receptors reduce calcium-dependent action potential duration by increasing potassium conductance. *Neuroscience Letters*, 42, 173–178.
- Winkler, J., Thal, L. J., Gage, F. H., & Fisher, L. J. (1998). Cholinergic strategies for Alzheimer's disease. *Journal of Molecular Medicine*, 76(8), 555–567.
- Xue, X., Shao, S., Li, M., Shao, F., & Wang, W. (2013). Maternal separation induces alterations of serotonergic system in different aged rats. *Brain Research Bulletin*, 95, 15–20.

Zou, S., & Kumar, U. (2018). Cannabinoid receptors and the endocannabinoid system: Signaling and function in the central nervous system. *Molecular Science*, 19(3), 1–23.